

## 論文内容要旨

### 論文題名

Continuous monitoring of caspase-3 activation induced by propofol  
in developing mouse brain

(マウス発達期脳神経細胞でのプロポフォールによるカスパーゼ 3 活性の持続的  
モニタリングの検討)

### 掲載雑誌名 (巻・号・頁・掲載年)

International Journal of Developmental Neuroscience (投稿中)

歯科麻酔科学 今野 歩

### 内容要旨

【目的】近年、脳神経発達期にあたる乳幼児期の全身麻酔が認知機能の発達に影響を及ぼすことが懸念されている。全身麻酔薬による脳神経発達への影響は麻酔科医にとって早急に解決されなければいけない問題である。神経ネットワークの構築において、アポトーシスは余剰神経回路連絡を除去し成熟回路へ変化させる生理的発達上のステップであるが、病的なダメージによっても誘導される。霊長類、齧歯類での過去の研究では、脳神経発達期の麻酔薬暴露によってアポトーシスが誘導されることが示唆されている。また長期間の麻酔薬暴露によりアポトーシス誘導が増大することも示されているが、アポトーシスのカスケード反応がいつ開始するのかは示されていない。もし麻酔薬暴露の初期に反応が始まるとすれば、短時間の全身麻酔でさえ脳の発達にダメージを与える可能性がある。このため、アポトーシス誘導の開始を捉える連続的なモニタリングが必要となる。本研究では全身麻酔薬であるプロポフォールが幼若脳の神経細胞に与える影響を生細胞で経時的に観察する手法を検討した。

【方法】FRET (蛍光共鳴エネルギー移動) 現象を利用しカスパーゼ 3 活性を可視化できる SCAT3 遺伝子を導入した新生マウス (P0-4) を用いて脳スライス標本作製した。SCAT3 とは蛍光タンパクである ECFP と Venus からなる融合タンパクでカスパーゼ 3 によって開裂されるペプチド、DEVD (アミノ酸配列) で連結されている。人工脳脊髄液 (ACSF) を対照群とし、プロポフォール (2,6-ジイソプロフェノール) 1  $\mu$ M、10  $\mu$ M、プロポフォールの有機溶媒である DMSO (ジメチルスルホキシド) を持続的に灌流投与した群と比較した。共焦点レーザー顕微鏡下に Z スタック-タイムラプス撮影

によって海馬 CA1 領域の神経細胞の蛍光波長強度比を 5 時間にわたり経時的に観察した。疑似カラーによって Venus/ECFP ratio イメージを構築し、ピクセル分析は各々の比率ごとのピクセル数から作製したヒストグラムによって定量化した。

ヒストグラム中で比率が 1.0 以上を示す範囲はカスパーゼ 3 活性が起きた CA1 ニューロンのピクセル数に相当する。

**【結果】**ヒストグラムが時間経過とともに右へシフトし、カスパーゼ 3 活性が起きた CA1 ニューロンのピクセル数が増加する様子を観察した。ヒストグラムの右方向へのシフトはプロポフォール  $1\mu\text{M}$  と  $10\mu\text{M}$  群において 5 時間で劇的に変化し、対照群の継時的変化のパターンとは明らかに異なっていた。

**【結論】**FRET によるリアルタイムイメージングの手法を用いて幼若期脳スライス標本におけるプロポフォール投与によるカスパーゼ 3 活性の始まりを観察することに成功した。このモデルは発達期の脳神経細胞におけるアポトーシス誘導を観察する手法となりえることを示唆した。